

REVISIÓN SISTEMÁTICA DE ENSAYOS CLÍNICOS CON TERAPIA CAR CONTRA LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA.



**TRABAJO DE FIN DE GRADO
REALIZADO POR: IGNACIO BOIRA ENRIQUE
TITULACIÓN: GRADO EN MEDICINA
TUTORA: ANA MARÍA SÁNCHEZ PÉREZ.
DEPARTAMENTO DE MEDICINA.**





TRABAJO DE FIN DE GRADO (TFG) - MEDICINA

EL/LA PROFESOR/A TUTOR/A hace constar su **AUTORIZACIÓN** para la Defensa Pública del Trabajo de Fin de Grado y **CERTIFICA** que el/la estudiante lo ha desarrollado a lo largo de 6 créditos ECTS (150 horas)

TÍTULO del TFG: REVISIÓN SISTEMÁTICA DE ENSAYOS CLÍNICOS CON TERAPIA CAR
CONTRA LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA.

ALUMNO/A: Ignacio Boira Enrique

DNI: 53788422R

PROFESOR/A TUTOR/A:

Fdo (Tutor/a):ANA MARIA SANCHEZ PEREZ.....

COTUTOR/A INTERNO/A (Sólo en casos en que el/la Tutor/a no sea profesor/a de la Titulación de Medicina):

Fdo (CoTutor/a interno):

ÍNDICE

1) INTRODUCCIÓN.....	9
1.1.- ANATOMOFISIOLOGÍA DE LAS CÉLULAS SANGUÍNEAS.	9
1.2.- LEUCEMIAS AGUDAS.....	10
1.2.1 ETIOLOGÍA.	11
1.2.2 CLASIFICACIÓN.	11
1.3.- LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA.....	11
1.3.1. ALTERACIONES CITOGENÉTICAS.....	12
1.3.2. MANIFESTACIONES CLÍNICAS Y DIAGNÓSTICO.....	13
1.3.3- PRONÓSTICO	13
1.3.4-TRATAMIENTO CON QUIMIOTERAPIA.	13
1.4. TRATAMIENTO CON TERAPIA GÉNICA.	18
1.4.1 SISTEMA INMUNE, FUNCIÓN DE LOS LINFOCITOS T	19
1.4.2. RECEPTORES DE ANTÍGENOS QUIMÉRICOS (CAR-T).....	20
1.4.3 VECTORES VIRALES PARA TRANSFORMAR LOS LINFOCITOS T	20
1.4.4 VENTAJAS DE LA TERAPIA CAR-T. EFECTOS ADVERSOS	22
2) JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	24
3) OBJETIVOS	24
4) MÉTODOS.....	24
5) RESULTADOS	26
5.1-EVALUACIÓN DE LA CALIDAD METODOLÓGICA.	26
5.2. ANÁLISIS Y SÍNTESIS DE LA EVIDENCIA CIENTÍFICA.....	27
5.3. RESUMEN DE LOS HALLAZGOS PRINCIPALES. ANÁLISIS DESCRIPTIVO.	27
6) CONCLUSIONES DE LOS AUTORES.	35
7) DISCUSIÓN.....	35
8) REFERENCIAS.	38

INTRODUCCIÓN.

La Leucemia es la neoplasia pediátrica más frecuente en España. La Quimioterapia tiene una eficacia del 85%, pero presenta efectos secundarios graves (síndrome de lisis tumoral, infecciones, neurotoxicidad y trombosis arterial) hasta en un 25% de los pacientes.

Recientemente la terapia génica se ha revelado como una alternativa. Consiste en redirigir la especificidad de los linfocitos T, mediante la expresión de receptores quiméricos (CAR), contra CD-19, antígeno de superficie de los linfocitos B tumorales.

OBJETIVO.

Evaluar la eficacia y toxicidad del mecanismo CART en el tratamiento de la Leucemia Linfoblástica Aguda.

MÉTODO.

Se realizaron búsquedas en dos bases de datos; en *Up To Date* con las palabras clave: *acute lymphoblastic leukemia treatment* y en Pubmed con las palabras clave: *Quimeric Antigen Receptor AND acute lymphoblastic* por un lado y *toxicity AND CAR AND Acute Lymphoblastic Leukemia* por otro lado.

El criterio de inclusión fue el uso de CART de 2ª Generación.

RESULTADOS.

Se seleccionaron 4 artículos a los que se les aplicó el test CASPe con resultados de calidad metodológica intermedia y la escala GRADE con evidencia científica alta.

Se comparan las tasas de de remisión completa entre los diferentes CAR utilizados en los 4 ensayos. Los CAR en los distintos ensayos difieren en los dominios de señal intracelular (dominio CD3z-4-1-BB y CD3z-CD28). Ambos presentan efectos secundarios similares, leves-moderados, que responden bien a tratamiento. El dominio BB mejora la tasa de remisión completa en un 91,5% respecto al dominio CD28 con un 78%.

CONCLUSIONES.

La eficacia del tratamiento parece ser determinada por el dominio intracelular del CAR sin empeorar los efectos secundarios. Comparado con la quimioterapia, el tratamiento CART mejora la calidad de vida y reduce hospitalización.

PALABRAS CLAVE: Chimeric antigen receptor (CAR); Leucemia Linfoblástica Aguda, Terapia Génica, Quimioterapia, Lentivirus, Toxicidad.

INTRODUCTION.

Leukemia is the most frequent pediatric neoplasia in Spain. Chemotherapy has an efficacy of 85%, but has serious side effects (tumor lysis syndrome, infections, neurotoxicity and arterial thrombosis) in up to 25% of patients.

Recently gene therapy has been revealed as an alternative. It consists of redirecting the specificity of the T lymphocytes, through the expression of chimeric receptors (CAR), against CD-19, surface antigen of the tumor B lymphocytes.

OBJECTIVE.

To evaluate the efficacy and toxicity of the CART mechanism in the treatment of acute lymphoblastic leukemia.

METHOD.

We searched two databases; in *Up To Date* with the keywords: *acute lymphoblastic leukemia treatment* and in Pubmed with the keywords: *Quimeric Antigen Receptor AND acute lymphoblastic* on the one hand and *toxicity AND CAR AND Acute Lymphoblastic Leukemia* on the other hand.

The inclusion criterion was the use of 2nd Generation CART.

RESULTS

Four articles were selected and the CASPe test was applied with intermediate methodological quality results and the GRADE scale with high scientific evidence.

The rates of complete remission between the different CARs used in the 4 trials are compared. The CARs in the different assays differ in the intracellular signal domains (domain CD3z-4-1-BB and CD3z-CD28). Both have similar, mild-moderate side effects, which respond well to treatment. The BB domain improves the complete remission rate by 91.5% compared to the CD28 domain with 78%.

CONCLUSIONS

The effectiveness of the treatment seems to be determined by the intracellular domain of the CAR without worsening the side effects. Compared to chemotherapy, CART improves quality of life and reduces hospitalization.

KEY WORDS: Chimeric antigen receptor (CAR); Acute Lymphoblastic Leukemia, Gene Therapy, Chemotherapy, Lentivirus, Toxicity.

EXTENDED SUMMARY

INTRODUCTION:

Leukemia is the most prevalent pediatric neoplasia in Spain. Acute leukemias are malignant clonal diseases of the bone marrow characterized by the accumulation of blasts that substitute normal hematopoietic tissue decreasing differentiated cells (erythrocytes, platelets and leukocytes).

Acute leukemias can be classified according to the cell line affected in myeloid (affectation of the cells of the myeloid line) and lymphoid (affectation of the lymphoid cell line).

In this case we will treat Acute Lymphoblastic Leukemia which is the most frequent type of leukemia.

The immunophenotypic level of Acute Lymphoblastic Leukemia is defined by the cytoplasmic CD79a, cytoplasmic CD22 and CD19 markers. The latter is the most used in daily clinical practice and will be the marker used in this work.

The conventional treatment of this cancer is Chemotherapy. This is divided into 3 phases.

In the first phase or the induction phase, agents such as vincristine, prednisone, L-asparaginase and anthracycline are administered for 4-6 weeks.

This treatment has a remission rate of 85% of patients but decreases their quality of life and present adverse effects.

The first of these is the tumor lysis syndrome that occurs in 25% of patients and can cause renal failure. Arterial thrombosis occurs in 11% of patients and infection in 20%.

The second phase or consolidation phase lasts 4-6 months and it uses methotrexate, cytarabine, anthracyclines (daunorubicin), alkylating agents (cyclophosphamide) and etoposides.

The last phase or maintenance lasts 24-36 months and 6-mercaptopurine and methotrexate are used.

Gene therapy proposes a new strategy in the treatment of this disease. The goal of gene therapy is to strengthen the immune system instead of destroying cancer cells with chemical agents or nonspecific radiation therapy.

The approach is to attack diseased B lymphocytes that divide uncontrollably. For this, it uses the system that the organism has to defend itself from foreign substances and diseased cells: the T lymphocytes.

The treatment consists of isolating the T lymphocytes from the patient by leukapheresis. Isolated T lymphocytes are transfused into lymphocytes that recognize the tumor cells, expand ex vivo, and reinclude in the patient.

This change in specificity is achieved thanks to the chimeric antigen receptors (CAR)

The CARs consist of an extracellular part that recognizes specific antigens, and an intracellular part, which initiates the signaling cascade in T cells, redirecting its specificity to recognize specific antigens of the tumor B lymphocytes.

The extracellular portion is designed from the coding sequence of the B lymphocyte immunoglobulin, the specific differentiation complement CD-19. The intracytoplasmic domain corresponds to chains of CD3, the molecule responsible for transducing activation signals through the antigen receptor of T lymphocytes.

The general method for the construction of viral vectors consists in the substitution of pathogenic elements for the gene material that is to be transferred. In this way non-replicating viral particles are obtained, although infectious, and capable of transferring the therapeutic gene material introduced into their genome.

For CARs, lentiviruses are used, which are a type of retrovirus. The main characteristic of retroviruses is that they integrate into the genome of the host cell, which is necessary to transform target cells that need to be divided.

The initial results of anti-CD19 CARs in clinical trials are very promising, however, different adverse effects have been reported such as neurological toxicity and cytokinic response syndrome (CRS).

The Cytokine Response Syndrome consists of a flu-like illness due to the stimulation of the immune response. Neurological toxicity is manifested by encephalopathy, delirium, focal deficits and seizures that are generally limited. These adverse effects effectively reverse with treatment.

OBJECTIVES.

- Evaluate the effectiveness of gene therapy (CART mechanism) for acute lymphoblastic leukemia
- Evaluate the toxicity of gene therapy (CART mechanism) for acute lymphoblastic leukemia.

METHODS.

First, a search was made in the UptoDate database with the key words "Acute lymphoblastic leukemia treatment" with obtaining 15 results.

It has been selected "Overview of the treatment of acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents" for its relationship with the subject to be treated.

Subsequently, a double search was performed in the Pubmed database.

In the first, the key words: "Chimeric Antigen Receptor AND acute lymphoblastic leukemia" have been used and I have used them as filters: Clinical trials, in the last 5 years, in humans and children (up to 18 years) and adults.

We have obtained 9 results, of which 3 have been selected taking into account as inclusion criteria to this work, the studies that include second generation CAR.

In the other search I used as keywords: "toxicity AND CAR and Acute Lymphoblastic Leukemia" using the same filters as the previous case.

Three results have been obtained, of which 1 article has been selected taking into account as inclusion criteria to this work, the studies that include second generation CAR.

CONCLUSION.

CARTs have a complete remission rate similar to chemotherapy, with a lower rate of adverse effects and an improvement in the quality of life of patients, decreasing their hospitalization and therefore decreasing health expenditure. In addition, in patients with a poor prognosis, gene therapy has presented better results than Chemotherapy.

After its automation the cost of gene therapy has decreased. It is necessary to contrast the data obtained in these studies with Phase II Clinical Trials.

If these results are confirmed, it could be applied to other neoplasms such as Multiple Myeloma.

In September 2017, the FDA approved the first gene drug on the market, the Tisagenlecleucel, which uses this mechanism. The first Phase II clinical trials will have the results by the end of 2018 and are being carried out throughout Europe, including the Clinic Hospital of Barcelona.

1) INTRODUCCIÓN

1.1.- ANATOMOFISIOLOGÍA DE LAS CÉLULAS SANGUÍNEAS.

Las células sanguíneas se sintetizan mediante un proceso denominado hematopoyesis, a partir de las células madres pluripotenciales o hemocitoblastos (Figura 1).

Durante el desarrollo embrionario y fetal, este proceso ocurre primeramente en el saco vitelino del embrión, después en el hígado, bazo, timo y ganglios linfáticos (estos 3 últimos entre el 2º y 7º mes). En los 3 últimos meses de embarazo, la médula ósea roja fetal se convierte la fuente principal de las células. Así seguirá durante toda la vida.

La médula ósea roja es un tejido conectivo muy vascularizado localizado en los espacios trabeculares del hueso esponjoso, presente en el esqueleto axial, cintura escapular y pelviana y en las epífisis proximales de los huesos largos como húmero y fémur.

En la época neonatal, la médula ósea roja tiene una gran actividad y es de color rojo intenso, pero a medida que la vida biológica avanza esta tasa de actividad decrece y la médula se reemplaza por médula ósea amarilla (mayoritariamente adipocitos).

En caso de hemorragias, la medula ósea puede pasar de amarilla a roja como mecanismo de reparación y defensa

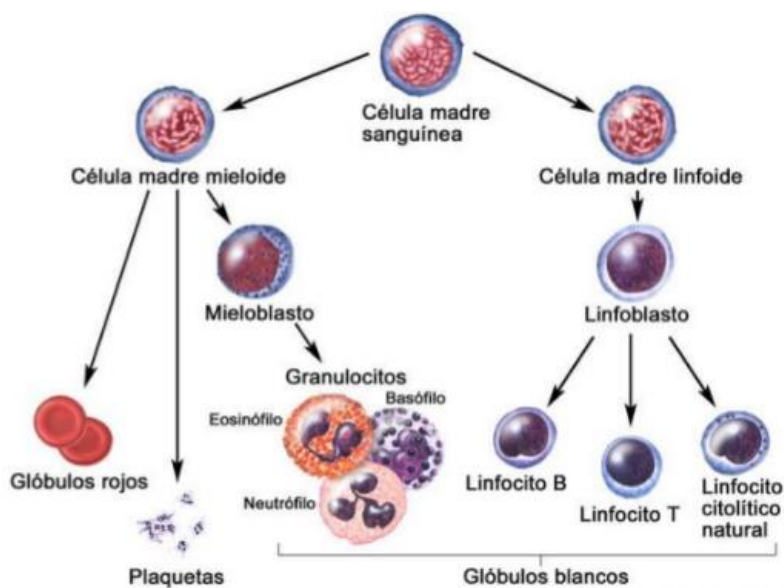


Figura 1: Esquema de los linajes celulares derivados de las células madres hematopoyéticas.

El proceso de hematopoyesis empieza cuando las células madre se dividen en dos tipos celulares, las células mieloides y linfoides (Figura 1).

Las primeras darán lugar a glóbulos rojos, plaquetas y monocitos, neutrófilos, eosinófilos y basófilos. Algunas células madre mieloides se diferencian en progenitoras, a las que se conoce como Unidad Formadora de Colonias (UFC).

Posteriormente, las células progenitoras dan paso a las precursoras (blastos), que finalmente se diferenciarán en los elementos corpusculares de la sangre (serie roja, blanca y plaquetas). Los blastos en condiciones normales no supera el 20% de la totalidad de células en la médula. Otras (junto a las células madre linfoides) desarrollan directamente las células precursoras.

A diferencia de las progenitoras mieloides, el linaje linfoide completa su desarrollo en tejidos linfáticos.

Las células progenitoras están reguladas por hormonas y los factores de crecimiento hematopoyético. Así, la Eritropoyetina (EPO), producida en las células peritubulares intersticiales aumenta los precursores de glóbulos rojos. La Trombopoyetina (TPO), sintetizada en el hígado estimula la síntesis de plaquetas a partir de megacariocitos.

Además, las citocinas actuando de forma paracrina estimulan la proliferación de células progenitoras medulares. Los dos tipos de citocina más importantes en este proceso son los factores estimulantes de colonias (CSF) e interleucinas.

1.2.- LEUCEMIAS AGUDAS.

Las leucemias agudas son enfermedades clonales malignas de la médula ósea que se caracteriza por la acumulación de blastos que van sustituyendo al tejido hematopoyético normal disminuyendo las células diferenciadas (eritrocitos, plaquetas y leucocitos). Al afectar a las 3 series se denomina panmielopatía.

Se considera diagnóstico de leucemia aguda la presencia de, al menos, 20% de blastos.

Las leucemias agudas se pueden clasificar según la línea celular afecta en mieloides (afectación de las células de la línea mieloide) y linfoides (afectación de la línea celular linfoide).

Por otro lado, tenemos las leucemias crónicas en las cuales hay una proliferación de células sanguíneas en la sangre por una disminución en el proceso de la apoptosis. Esto hace que se prolongue la vida de la célula disminuyendo progresivamente su función.

1.2.1 ETIOLOGÍA.

Diversas situaciones pueden causar el crecimiento anormal de los blastos, por ejemplo:

- Radiación ionizante (por tratamientos previos anticancerígenos).
- Causas genética: gemelos univitelinos (donde se observa una alta incidencia), inestabilidad cromosómica (Anemia de Fanconi), Síndrome de Down o Síndrome de Li-Fraumeni.
- Factores químicos: benceno, humo de tabaco, quimioterapia y antraciclinas.
- Antecedentes de síndrome mielodisplásico o neoplasia mieloproliferativa crónica.

Dentro de las leucemias agudas se clasifican en Leucemia Aguda Linfoblástica (leucemia más frecuente en pediatría) y Leucemia aguda mieloblástica (afecta más a adultos)

1.2.2 CLASIFICACIÓN.

Las leucemias se pueden clasificar desde dos puntos de vista;

1) Etiológico (de novo o secundarias)

2) Según la línea hematopoyética, en cuyo caso serán:

- Leucemia aguda mieloblástica o no linfoides (LMA)* (serie roja, serie leucocitaria y serie plaquetaria). En este tipo la presencia de mieloperoxidasa (MPO) o los bastones de Auer en células es diagnóstico de estirpe mieloide, aunque no todas tienen esta característica.
- Leucemia aguda linfoblástica (LLA)*; línea linfóide B o T siendo lo más frecuente la estirpe B. La LLA es hasta cinco veces más frecuente que LMA.

1.3.- LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA.

La supervivencia de este cáncer a los 5 años es un 85%, gracias al tratamiento mediante protocolos especializados de quimioterapia y a que actualmente la mayoría de pacientes (75-80%) diagnosticados de LLA en EEUU participa en ensayos clínicos, que pueden durar hasta 2-3 años

La Leucemia Linfoblástica Aguda se puede clasificar según unos parámetros.

3.1. Clasificación morfológica.

L1: Leucemia Linfoblástica Aguda de blastos pequeños

L2: Leucemia Linfoblástica Aguda de blastos grandes

L3: Leucemia Linfoblástica Aguda tipo Burkitt con citoplasma vacuolado y con típica imagen histológica "en cielo estrellado"

3.2. Clasificación inmunológica:

Depende de marcadores inmunológicos que definen la línea linfóide:

Inmunofenotipo B/Leucemia linfoblástica B:

Se clasifican según el estado de madurez de los blastos que crecen incontroladamente. Definida por los marcadores CD79a citoplasmático, CD22 citoplasmático y CD19 positivos (importante por la terapia génica y por los CAR-T). Actualmente el marcador más utilizado en la práctica clínica es el CD19.

Leucemia Linfoblástica Aguda-B1, pre-B o pro-B.

Este tipo de leucemia es de precursor B precoz y se caracteriza por la positividad de marcadores inmaduros (TdT + y CD34+) y negatividad de marcadores maduros (CD 20 -). y CD 10- .

Leucemia Linfoblástica Aguda-B2:

Leucemia Linfoblástica Aguda B común. Positiva para el marcador CD 10 (CD10+)

Leucemia Linfoblástica Aguda -B3:

Sus células presentan, por su estadio mayor de maduración, cadenas pesadas de las inmunoglobulinas intracitoplasmáticas que no están presentes en los estadios anteriores.

Leucemia Linfoblástica Aguda-B4 o madura tipo Burkitt:

Blastos maduros que presentan inmunoglobulinas de superficie. Son además TdT+, a diferencia del resto de variantes de tipo B. Son positivas para marcadores maduros (CD 20+).

Correlacionando con la clasificación morfológica, LLA-B1, B2 y B3 corresponden a las variantes morfológicas L1 Y L2 mientras que LLA-B4 corresponde con L3.

Inmunofenotipo T/Leucemia linfoblástica T:

Definido por el marcador citoplasmático CD3+. Son TdT +.

Esta clasificación está definida por el grado de maduración de los blastos.

Corresponde con las formas L1 y L2 y tiene 4 variantes; LLA-T1o pro-T, LLA-T2 o pre-T, LLA-T3 o cortical y LLA-T4 o madura

1.3.1. ALTERACIONES CITOGENÉTICAS.

Hasta en el 80% de los casos hay alteraciones cromosómicas, sobretodo traslocaciones.

Las traslocaciones más significativas son:

-t (9;22) Cromosoma Philadelphia: Produce la proteína de fusión BCR-ABL. Esta alteración es la causante de la Leucemia Mieloide Crónica, con mal pronóstico. Es típica de adultos y rara en niños.

-t (12;21): Origina el gen de fusión TEL/AML-1 (ETV6-RUNX1). Es frecuente en Leucemia Linfoblástica Aguda infantil y le confiere un buen pronóstico.

-t(4;11): reordenamiento gen MLL Mayoritariamente infantil, se corresponde con LLA-B1 o pro-B y es de mal pronóstico.

-t (8;14): Reordenamiento C-MYC. Es diagnóstica de la variedad LLA-B4 o tipo Burkitt o L3.

1.3.2. MANIFESTACIONES CLÍNICAS Y DIAGNÓSTICO.

Las manifestaciones clínicas se deben al desplazamiento de la hematopoyesis normal por blastos en la médula ósea y por la infiltración blástica en otros tejidos.

Los síntomas habituales son pérdida de apetito, debilidad y fatigabilidad, fiebre, dolor óseo, articular o muscular, hematomas (por trombopenia) o hemarrogias espontáneas o extremas tras herida.

En un 70% de los pacientes se encuentran infecciones como abscesos, sinusitis, adenopatías, hepatoesplenomegalias, neumonía etc. A nivel analítico normalmente se observan citopenias y presencia de blastos en sangre periférica, (aunque en la fase inicial un 10% de las leucemias tienen un hemograma con leves alteraciones sin presencia de blastos); presencia de LDH y ácido úrico en el suero.

El diagnóstico definitivo se basa en la punción medular donde se observa una presencia de blastos >20% de la celularidad medular.

1.3.3- PRONÓSTICO

La LLA puede clasificarse según pronóstico como riesgo favorable o desfavorable (Figura 2).

CARACTERÍSTICA	FAVORABLE	DESFAVORABLE
Edad (años) ^a	1-9	<1 > 50
Leucocitos ($\times 10^9/L$) ^b	<50 > 30 (LAL adulto de precursores B)	> 50 (LAL infantil de precursores B) > 100 (LAL de precursores T)
Fenotipo ^c		Pro-T Pro-B
Citogenética	Hiperdiploidia > 50 cromosomas ^e o Índice de DNA > 1,15 t(12; 21)(TEL-AML1)	Hipodiploidia t(4; 11)(MLL-AF4) t(9; 22)(BCR-ABL) Cariotipo complejo ^d
Respuesta al tratamiento	Rápida	Lenta
Enfermedad residual	Disminución rápida y mantenida	Disminución lenta o persistencia

Figura 2: Factores favorables y desfavorables en Leucemia Linfoblástica Aguda.

1.3.4-TRATAMIENTO CON QUIMIOTERAPIA.

El tratamiento tiene como finalidad principal la remisión completa de enfermedad, es decir la desaparición de síntomas y blastos hasta el nivel normal <5% de la celularidad en la médula y con recuperación de la hematopoyesis normal.

Después del tratamiento se puede, con técnicas genéticas e inmunofenotípicas detectar la enfermedad mínima residual.

Al inicio del tratamiento los pacientes requieren soporte transfusional, tratamiento con antibióticos de gran espectro por su deficiencia inmunológica y incluso corrección de desbalances metabólicos como la hiperuricemia.

El principal problema del tratamiento es la toxicidad. En *Rubnitz JE y col. 2004* se estimó que la incidencia de muerte a los 10 años debida al tratamiento era de 2,9 %, un número considerable siendo la edad el único predictor de muerte en este estudio. Los niños entre 1-9 años tenían menor riesgo que los de otras edades.

El tratamiento tiene 3 fases:

INDUCCIÓN:

Es la fase inicial y el 90% de los pacientes remiten en esta fase).

En esta fase se administran como agentes vincristina, prednisona, L-asparaginasa y antraciclina.

La vincristina se administra semanalmente durante 3-4 semanas. Los corticoides diariamente (prednisona, prednisolona o dexametasona). La asparaginasa se administra tanto en su forma Pegilada (Oncaspar) o como 6-12 dosis de L-Asparaginasa. La antraciclina se utiliza sobretodo en pacientes de alto riesgo. Se administran 3 dosis.

Si el paciente tiene la t (9;22) (cromosoma Philadelphia se puede administrar un Inhibidor de la tirosin Kinasa (Imatinib).

La respuesta se evalúa como en el diagnóstico, mediante el examen de médula ósea. Los mejores indicadores de mejoría son la disminución de linfoblastos y la presencia de mínima enfermedad residual a los 15 días de finalizar la fase de inducción.

Según si la respuesta es rápida o lenta se puede aumentar el tratamiento.

Los pacientes de respuesta rápida tienen mejor pronóstico que los de respuesta lenta.

FALLO EN LA FASE DE INDUCCIÓN:

Si la fase de inducción falla, habrá persistencia de blastos en la sangre, médula ósea 4-6 semanas tras el tratamiento.

Clásicamente, si falla la fase de inducción se realiza como tratamiento de rescate un trasplante alógeno. Esta práctica se ha hecho en multitud de centros, pero en *Oudot C y col. 2008* se expone que solo se limita a la experiencia con un número pequeño de pacientes en ensayos prospectivos por lo que realizar un trasplante alogénico tras un fallo de inducción no debe ser una práctica generalizada ya que hay una falta de evidencia.

En *Schrapp M y col, 2012*, un estudio retrospectivo internacional de 14 grupos de estudio con 44,017 niños menores de 18 años diagnosticándose entre 1985 y 2000, se observó que el 2,4 % tuvieron una recaída. Este estudio señala que los factores relacionados con el fallo en la fase de inducción fueron: sexo masculino, menor de 6 años en el momento del diagnóstico, elevada cantidad de leucocitos (>100/microL), leucemia de células T, invasión del sistema nervioso. La información genética se obtuvo de 624 pacientes que se ordenaron según su cariotipo y supervivencia a los 10 años:

- Alta citogenética hiperdiploide. (N=55) — 72 %

- Cariotipo Normal (N=159) — 36 %
- Otras aberraciones cromosómicas (N=250) — 30 %
- 11q23/MLL (N=50) — 16 %
- t(9;22)/BCR-ABL1 (N=110) — 11%

Estos datos nos indican la heterogeneidad del fallo en la inducción y señalan la necesidad de individualizar el tratamiento. Al compararla eficacia del tratamiento quimioterápico (427 pacientes) con el trasplante de células hematopoyéticas (198) según la genética.

Los resultados indican que los niños sin el gen MLL (bajo riesgo) tienen más supervivencia a los 10 años cuando son tratados con quimioterapia que con trasplante de células hematopoyéticas (73% vs 59%).

En *Silverman LB y col, 1999*, estudio de 774 niños con LLA (incluyendo células T) en EEUU, 23 persistieron la leucemia post tratamiento. De estos 23, aunque 21 lograron la remisión clínica, su supervivencia sin complicaciones a 5 años fue solo un 16%.

Esto es debido a los efectos secundarios de la Quimioterapia que producen un deterioro en el estado del paciente y incrementan la mortalidad sobretodo asociada a infecciones.

El grupo que tuvo remisión inicial tuvo supervivencia sin complicaciones a los 5 años del 82 %.

EFFECTOS ADVERSOS. Puede ser debido a una rápida eliminación del tumor que nos puede provocar un síndrome de lisis tumoral (hiperuricemia, hiperpotasemia, hiperfosforemia e hipocalcemia). Además `pueden aparecer trombosis, hemorragias e infecciones. Otros efectos no deseados podrían ser mucositis, pancreatitis y hiperglucemias) (*Therzah M Horton y col, 2017*).

Síndrome de lisis tumoral.

En el Síndrome de lisis tumoral se produce una liberación al torrente circulatorio de sustancias cuando se destruye el tumor. Una de las más frecuentes es el ácido úrico. La hiperuricemia puede producir oliguria y anuria dando lugar a un fracaso renal ya que el riñón está eliminando este exceso de ácido úrico y además éste se precipita en los túbulos. Por ello, en el síndrome de lisis tumoral se administran fármacos reductores de ácido úrico (alopurinol y rasburicasa). Los cuales, a su vez, tienen otros efectos adversos (anafilaxia, hemólisis, hemoglobinuria, metahemoglobinemia). Además, está contraindicado en pacientes con deficiencia de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa porque causa gran hemólisis.

En *Truong TH y col, 2007*, se observaron 4 factores predictores de síndrome de lisis tumoral mediante un análisis multivariante.

Estos son: Edad (>10 años), esplenomegalia, masa mediastínica, leucocitos inicialmente de >20.000/microL. En ausencia de estos factores se estimó un Valor Predictivo Negativo de un 98% y una sensibilidad de un

96%. El Valor Predictivo de la Prueba es un parámetro estadístico que nos indica la posibilidad de que si se tiene una prueba negativa no se tenga la enfermedad. En este caso si no tenemos estos 4 factores predictores, el valor predictivo negativo indica que existe un 98% de probabilidades de no padecer la enfermedad.

La sensibilidad es un parámetro estadístico que nos indica la posibilidad que teniendo la enfermedad haya una prueba diagnóstica positiva.

Trombosis.

El tratamiento con quimioterapia puede asociarse con la formación de pequeños coágulos. La incidencia de fenómenos trombóticos es muy variable, desde 1-2% en *Priest JR y col, 1982* a un 11% en *Nowak-Göttl U y col, 2006*.

En algunos estudios el tratamiento con asparaginasa junto al uso concomitante de esteroides o se considera un factor de riesgo. Sin embargo, en *Nowak-Göttl U y col, 2003* se observó que la administración de L-asparaginasa junto a dexametasona (1,8%) producía menos trombosis que la prednisona (10,4%).

Hemorragias.

Causadas por trombocitopenia. Los pacientes con <10.000 plaquetas /microL tienen un riesgo muy alto. El sangrado es sobretodo de piel y mucosas, siendo el sangrado visceral inusual.

Infección.

Las infecciones en los pacientes tratados con quimioterapia son frecuentes debido a la disminución de neutrófilos (neutropenia) a causa de la mielosupresión inducida por el tratamiento. En *Azfar S y col, 2009* se realizó un seguimiento durante 7 años de 425 niños que recibieron terapia en fase de inducción y se observó que un 20% tuvo infecciones (mortalidad 1%).

Dado el estado de inmunosupresión en estas pacientes, las infecciones deben tratarse agresivamente, estando recomendada la profilaxis antibiótica con sulfametoxazol-trimetoprim para prevenir *Pneumocystis carinii*. Existen más tratamientos, pero esta infección es frecuente en pacientes inmunodeprimidos.

Anafilaxia.

Se observa con más frecuencia con el uso de Asparaginasa, aunque se ha reportado también con el uso de etopósidos y uricasas (*Therzah M Horton y col, 2017*). La asparaginasa puede producir reacciones alérgicas hasta en un 30% de los pacientes, reacción que puede estar predispuesta por otros factores como asma,

dermatitis atópica y otras patologías relacionadas con el sistema inmune.

Supresión del eje hipotálamo-hipofisario.

Los corticoesteroides, ampliamente utilizados en el ámbito hospitalario producen una supresión del eje hipotálamo-hipofisario por el feedback negativo. Se recomienda que los niños y niñas con infecciones, traumas o cirugías en el periodo de inducción se reemplace el corticoide por otro fármaco que no inhiba el eje (*Therzah M Horton y col, 2017*).

Afectación del sistema nervioso central.

Al momento del diagnóstico de la LLA la afectación del sistema nervioso central es infrecuente (5%). Antes del uso preventivo de radioterapia craneospinal en el sistema nervioso central, el 80% de los pacientes presenta meningitis leucémica.

El 50% de los niños y niñas tratadas con 24 GY desarrollan cambios en la RMN (atrofia, leucoencefalopatía, calcificaciones o alteraciones en la sustancia gris). Para minimizar esto se utiliza en algunos protocolos la Quimioterapia intratecal en afectaciones severas del SNC.

CONSOLIDACIÓN.

Tras alcanzar la remisión completa comienza la fase de consolidación, que pretende prevenir la reaparición de la enfermedad ya que linfoblastos tumorales pueden permanecer en la médula ósea.

Esta fase dura 4-6 meses y en ella se utiliza metotrexato, citarabina, antraciclinas (daunorubicina), agentes alquilantes (ciclofosfamida) y etoposidos. El régimen terapéutico se ajusta según el riesgo.

En Seibel NL y col 2008, un estudio de 1299 pacientes, se demostró que en pacientes de alto riesgo el tratamiento de mayor intensidad, aumentaba la supervivencia comparado con el tratamiento estándar. En los tratamientos quimioterápicos muy agresivos pueden aparecer complicaciones adicionales tales como cánceres secundarios (por quimioterapia) y disminución de la fertilidad (agentes alquilantes).

MANTENIMIENTO.

Tras la fase de consolidación o intensificación los pacientes reciben un régimen de mantenimiento, menos intensivo usando diariamente 6-mercaptopurina y semanalmente metotrexato. La duración media del tratamiento es 24-36 meses. En la figura 3 se observa un esquema general del tratamiento.

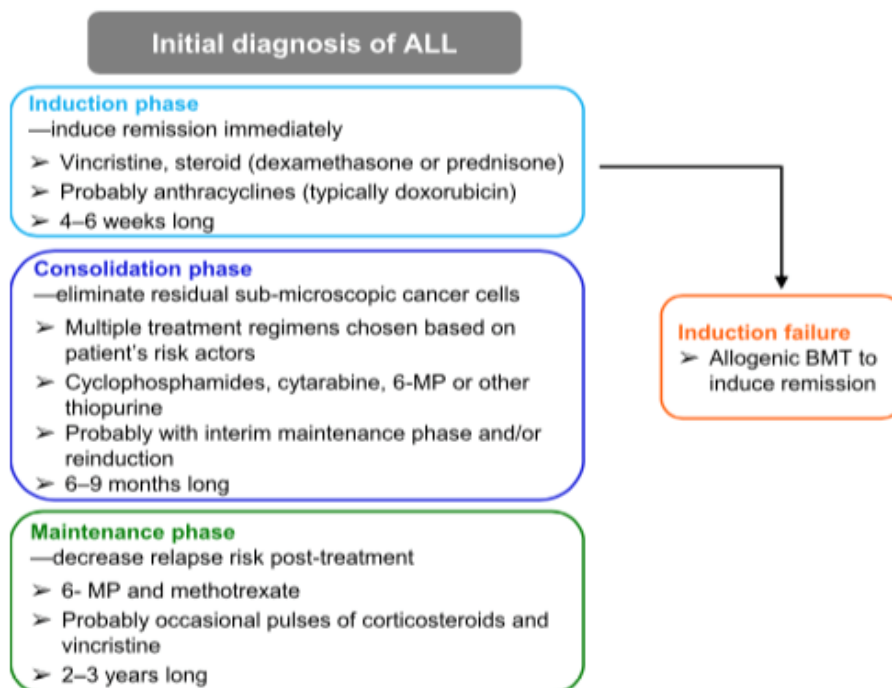


Figura 3: Resumen del tratamiento Quimoterápico actual.

Este modelo se utiliza en la mayoría de Hospitales, a no ser que se esté realizando algún proyecto experimental con un nuevo agente.

1.4. TRATAMIENTO CON TERAPIA GÉNICA.

La terapia génica plantea una nueva estrategia en el tratamiento de esta enfermedad. El objetivo de la terapia génica es fortalecer el sistema inmune en lugar de destruir las células cancerosas con agentes químicos o radioterapia inespecífica.

El planteamiento es atacar de forma específica a los linfocitos B enfermos que se dividen sin control. Para ello, utiliza el propio sistema que el organismo tiene para defenderse de cuerpos extraños y células enfermas: los linfocitos T.

El tratamiento consiste en aislar los linfocitos T de la propia paciente por leucaféresis. Los linfocitos T aislados se transforman en linfocitos que reconozcan las células tumorales, se expanden ex vivo, y se vuelven a incluir en la paciente. (Figura 4)

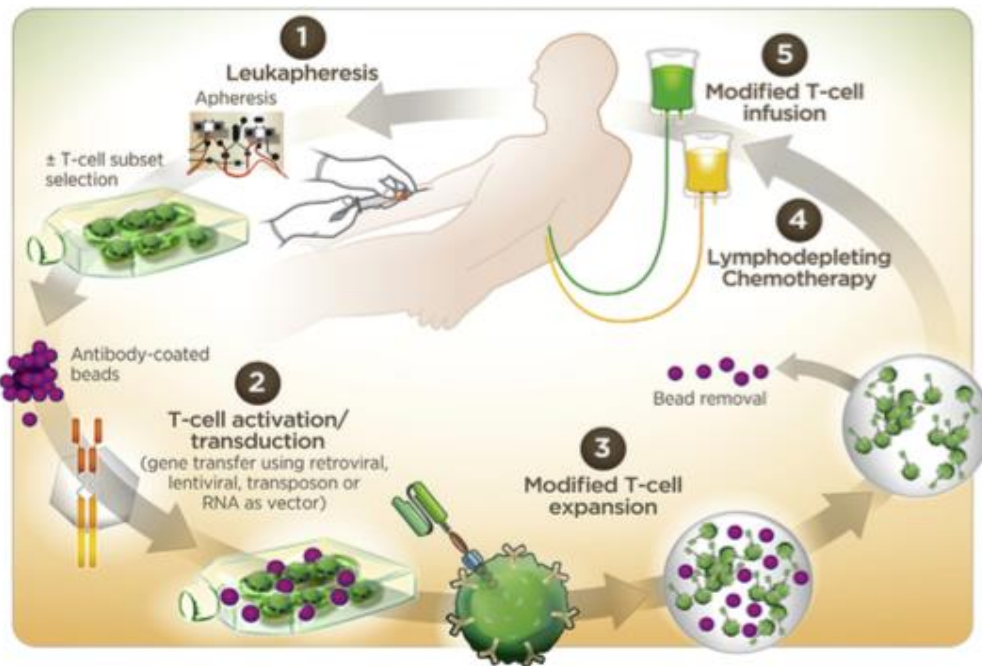


Figura 4: Proceso de la terapia génica

1.4.1 SISTEMA INMUNE, FUNCIÓN DE LOS LINFOCITOS T

Los linfocitos T son células del sistema inmune que realizan la respuesta adaptativa. Los antígenos externos son presentados a los linfocitos T por las Células Presentadoras de Antígenos mediante los Complejos Mayores de Histocompatibilidad. Los linfocitos T se clasifican en dos grupos según su función.

Los Linfocitos T Helper (expresan el dominio CD4) se encargan de estimular a otras células inmunológicas para potenciar la respuesta. Fundamentalmente a los linfocitos T citotóxicos y a los linfocitos B.

Los linfocitos T citotóxicos (expresan el dominio CD8) se encargan de efectuar la respuesta inmune celular la cual consiste en atacar agentes (virus, bacterias) intracelulares.

Los linfocitos T tienen un receptor de antígenos denominado receptor de linfocito T o TCR que es un receptor asociado a una vía de señalización intracelular y a ligandos específicos de los Complejos Mayores de Histocompatibilidad externamente. El TCR está muy vinculado con los dominios CD4, CD8 y CD3, los cuales le sirven de apoyo en el proceso de reconocimiento.

En el caso que un linfocito T presente el dominio CD4 tendrá una afinidad por el Complejo Mayor de Histocompatibilidad II mientras que si el linfocito T presenta el dominio CD8 tendrá una afinidad por el Complejo Mayor de Histocompatibilidad I.

La transformación de los linfocitos T consiste en introducirles el gen que codifique para un receptor de antígeno que se expresa en linfocitos B tumorales; el CD-19.

De este modo, cuando el linfocito T exprese este receptor podrá reconocer y destruir al linfocito B tumoral.

1.4.2. RECEPTORES DE ANTÍGENOS QUIMÉRICOS (CAR-T).

Estos son receptores de antígenos **quiméricos** (de sus siglas en inglés, CAR) y están diseñados por ingeniería genética. Constan, como los endógenos, de una parte extracelular que reconoce antígenos específicos, y una intracelular, que inicia la cascada de señalización en células T, redireccionando su especificidad, a través de un mecanismo independiente del MHC, para reconocer antígenos específicos de los linfocitos B tumorales

La porción extracelular se diseña a partir de la secuencia codificante de la inmunoglobulina de los linfocitos B, el complemento de diferenciación específico CD-19. El dominio intracitoplasmático corresponde a cadenas del CD3, la molécula responsable de transducir señales de activación a través del receptor antigénico de los linfocitos T (Figura 5).

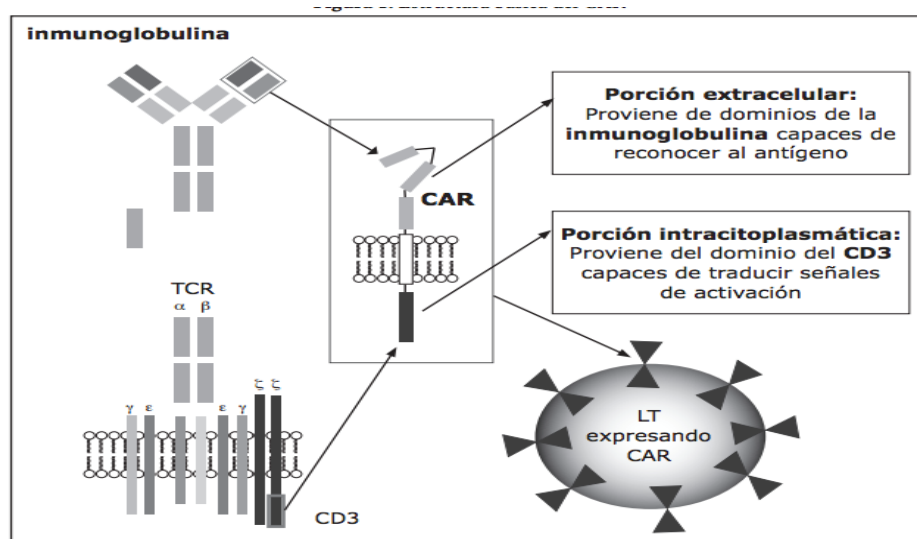


Figura 5: Estructura del CAR.

1.4.3 VECTORES VIRALES PARA TRANSFORMAR LOS LINFOCITOS T

La terapia génica necesita vectores para trasladar la información genética al interior celular. Uno de los vectores más eficiente es el derivado de los virus patógenos. Los virus son entidades biológicas acelulares, carecen de metabolismo y aprovechan la maquinaria molecular de replicación de los ácidos nucleicos de la célula hospedadora.

El objetivo de la terapia génica es transformar un virus PATÓGENO en un vector viral (instrumento potencialmente curativo). Es decir :

-Que no pueda replicarse por si mismo.

-Limitar el riesgo de recombinación: si el virus recombina con otros virus salvajes el resultado es impredecible y potencialmente peligroso.

En el genoma parental de un virus se pueden clasificar genes para tres tipos de proteínas: las proteínas que utiliza para su replicación, las que forman estructuralmente al virión y las que le confieren patogenicidad (proteínas que interaccionan con proteínas celulares).

El método general para la construcción de vectores virales consiste en la sustitución de elementos patógenos por el material génico que se desea transferir. De este modo se consiguen partículas virales no replicativas aunque infectivas, y con capacidad de transferir el material génico terapéutico introducido en su genoma. Los vectores virales se fabrican en células empaquetadoras en el laboratorio (Figura 6).

A estas células se les proporciona toda la información para la formación de la partícula vírica, pero el virus resultante será incapaz de replicarse en la célula diana. En este caso, los linfocitos T son la célula diana.

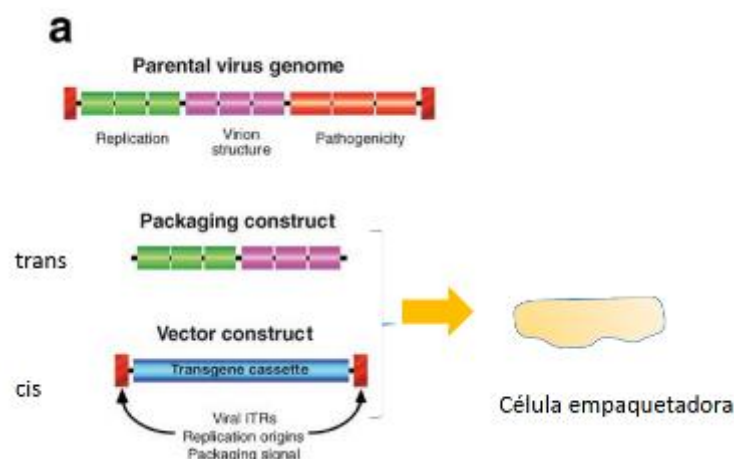


Figura 6: Estructura viral..

La terapia génica CAR-T utiliza vectores víricos derivados de lentivirus, que es un retrovirus.

Los retrovirus pertenecen a la familia de los Retroviridae.

La característica principal de los retrovirus es que se integran en el genoma de la célula huésped, lo cual es necesario para transformar células dianas que necesitan dividirse. Por tanto, la progenie conservará el gen terapéutico.

En la célula diana (linfocitos T) la infección de los retrovirus es iniciada por la unión de las proteínas víricas de superficie a proteínas receptoras específicas de la superficie celular. Este proceso es el mismo que utiliza

el virus salvaje cuando infecta a linfocitos T provocando el SIDA.

El virus modificado comparte con el virus salvaje las primeras fases. La primera fase es la de unión o **ADSORCION**. Posteriormente la entrada del virus se realiza por **FUSIÓN** de la membrana lipoproteica del virus y de la membrana de la célula hospedadora.

Una vez dentro, la cápside proteica se **rope (UNCOATING)**, gracias a la proteasa y quedan libres en el citoplasma el RNA vírico y la transcriptasa inversa. Se realiza la **transcripción inversa** y el DNA proviral penetra en el núcleo y se **integra** en el DNA del cromosoma de la célula hospedadora gracias a la integrasa .

Hasta aquí el proceso lo comparte con el virus salvaje. El virus modificado genéticamente no contiene la información del RNA viral, de forma que no tiene capacidad de replicación.

Los virus modificados por terapia génica derivados de lentivirus tiene una alta eficacia para infectar a los linfocitos T, pero llevando **solo la información genética** terapeutica, la que codifica para el receptor CAR.

Esos linfocitos T son funcionales y una vez devueltos al paciente pueden atacar a los linfocitos B .

1.4.4 VENTAJAS DE LA TERAPIA CAR-T. EFECTOS ADVERSOS

Esta estrategia contra la LLA ha dado como resultado elevadas tasas de remisión completa que no dejan enfermedad residual mínima en pacientes adultos y pediátricos de LLA recidivante y refractaria a tratamientos tradicionales.

Los resultados iniciales de los CAR anti-CD19 en los ensayos clínicos son muy prometedores, sin embargo, se han reportado distintos efectos adversos como toxicidad neurológica y el síndrome de respuesta citoquinica (SRC). La persistencia de los CAR anti-CD19 puede dar como resultado una vigilancia tumoral continua, pero también puede dar lugar a una aplasia prolongada de células B.

1.4.4.1 SÍNDROME DE LA RESPUESTA CITOQUÍNICA:

La aparición de SRC es típicamente 1 entre 14 días después de la infusión y se correlaciona con la activación y expansión de las células CAR in vivo. Inicialmente se manifiesta con síntomas parecidos a los de la gripe y fiebre que pueden escalar rápidamente hasta niveles tan altos como 40.5 C.

El síndrome puede ser leve y se puede tratar con antipiréticos y líquidos por vía intravenosa; o ser más severo y requerir intervención con terapia dirigida a las citoquinas. Es posible también que la progresión a hipotensión, hipoxia y disfunción de los órganos terminales puede amenazar la vida.

Se ha confirmado que la carga de la enfermedad antes de la infusión de CAR es un fuerte predictor de la gravedad de la respuesta citoquínica. Existen unos criterios clínicos que nos permiten diagnosticar un Síndrome de Respuesta Citoquínica. (Figura 7)

Diagnostic criteria for sCRS secondary to CAR T cells.

Criteria for sCRS
Fevers for at least three consecutive days
Two cytokine max fold changes of at least 75 or one cytokine max fold change of at least 250
At least one clinical sign of toxicity such as hypotension (requiring at least one intravenous vasoactive pressor) or, Hypoxia ($PO_2 < 90\%$) or,
Neurologic disorders (including mental status changes, obtundation, and seizures)

Figura 7: Criterios diagnósticos de Síndrome de Respuesta Citoquínica.

1.4.4.2-TOXICIDAD NEUROLÓGICA.

Los eventos neurológicos ocurren dentro de las primeras semanas de terapia, incluyen encefalopatía, delirio, déficits focales y convulsiones que generalmente son limitados, pero se han informado muertes relacionadas con el tratamiento por edema cerebral.

Tanto en el SRC como la toxicidad neurológica son tratados con Tocilizumab (anticuerpo monoclonal anti IL-6) o corticoides.

En la mayoría de los pacientes tratados, células CAR-CD19 y son detectables en el líquido cefalorraquídeo (LCR), sin embargo, su presencia en el LCR no predice la toxicidad.

Los perfiles de citoquina suelen ser anormales en el LCR y la falta de eficacia del tocilizumab en el tratamiento de los eventos neurológicos no implica necesariamente que estos eventos no estén mediados por las citoquinas. Se necesitan más estudios para determinar el mecanismo de acción, los factores de riesgo y el tratamiento óptimo de la toxicidad neurológica después de la terapia con células T-CAR.

1.4.4.3-APLASIA DE CÉLULAS B.

Se ha observado aplasia de células B e hipogammaglobulinemia asociada. La recuperación de la función normal de las células B ocurre con la pérdida de CAR. De hecho, la aplasia de células B se puede usar como un marcador biológico para la actividad de las células CAR en curso. Hasta la fecha, la terapia de reemplazo de inmunoglobulina intravenosa se ha aplicado en pacientes con un seguimiento de más de 5 años.

2) JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La Leucemia Linfoblástica Aguda es una de las neoplasias infantiles más frecuentes (30% de todas las neoplasias pediátricas). En España tiene una incidencia de 330 casos nuevos /año.

Su tratamiento actual pese ser efectivo (85%) tiene graves efectos adversos.

La terapia CAR en este tipo de leucemia, ha dado resultados espectaculares con remisiones totales.

Sin embargo, también presenta efectos adversos.

Por tanto, este trabajo pretende realizar una revisión sistemática de los ensayos clínicos con CAR con el propósito de concluir si la terapia génica constituye una alternativa que potencialmente pueda sustituir a la quimioterapia.

Se discuten al final aspectos económicos de ambas terapias.

3) OBJETIVOS

- Evaluar la eficacia de la Terapia Génica (mecanismo CART) para la Leucemia Linfoblástica Aguda.
- Evaluar la toxicidad de la Terapia Génica (mecanismo CART) para la Leucemia Linfoblástica Aguda.

4) MÉTODOS

4.1-TIPO DE DISEÑO.

El presente estudio consiste en una revisión sistemática sobre la evidencia existente sobre el tratamiento de la Leucemia Linfoblástica Aguda con CART.

4.2-ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA.

En primer lugar se ha realizado una búsqueda en la base de datos UptoDate con las palabras clave "Acute lymphoblastic leukemia treatment" con la obtención de 15 resultados.

Se ha seleccionado "Overview of the treatment of acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents" por su relación con el tema a tratar.

Posteriormente se ha realizado una doble búsqueda en la base de datos Pubmed.

1.-En la primera se han utilizado las palabras clave:"Quimeric Antigen Receptor AND acute lymphoblastic leukemia" y he utilizado como filtros: Ensayos clínicos, en los últimos 5 años, en humanos y de niños (hasta 18 años) y adultos.

Se han obtenido 9 resultados, de los cuales se han seleccionado **3** teniendo en cuenta como criterio de inclu-

sión a este trabajo, los estudios que incluyan CAR de segunda generación.

2.-En la otra búsqueda he utilizado como palabras clave: "toxicity AND CAR and Acute Lymphoblastic Leukemia" utilizando los mismos filtros que el caso anterior.

Se han obtenido 3 resultados, de los cuales se ha seleccionado **1** artículo teniendo en cuenta como criterio de inclusión a este trabajo, los estudios que incluyan CAR de segunda generación.

Criterios de inclusión:

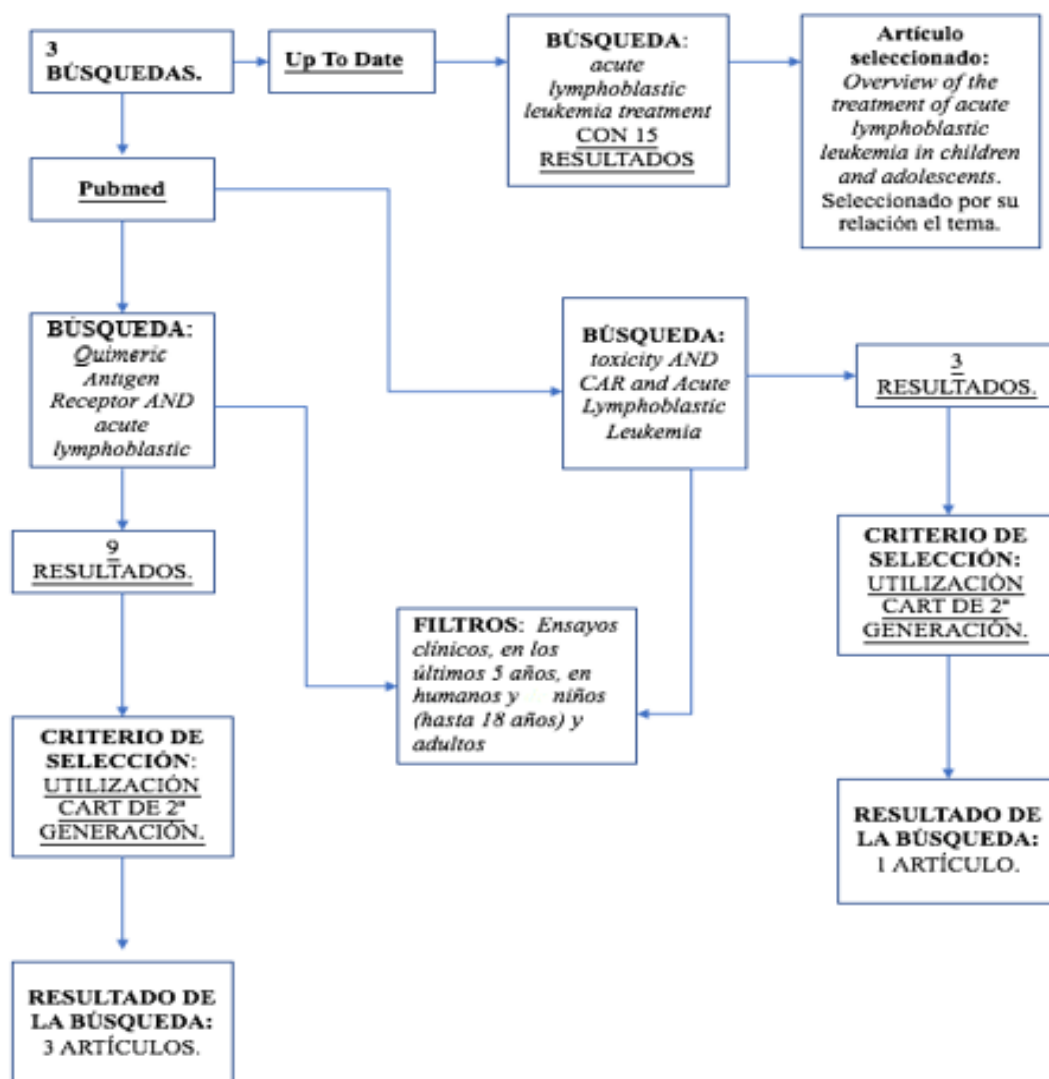
-Paciente con LLA CD19 + refractaria al tratamiento de quimioterapia.

Criterio de exclusión:

-Afectados por otras variantes de LLA.

Una vez obtenidos los **4** artículos, se ha confirmado que cumplían los criterios de inclusión y no eran susceptibles de exclusión.

En la imagen inferior se muestra un diagrama de flujo de mi búsqueda y elección de resultados.



5) RESULTADOS

5.1-EVALUACIÓN DE LA CALIDAD METODOLÓGICA.

Para realizar la lectura crítica de los estudios y evaluar así la calidad metodológica se utiliza la plantilla CASPe para Ensayos Clínicos, la cual consta de 11 preguntas.

1-¿SE ORIENTA EL ENSAYO A UNA PREGUNTA CLARAMENTE DEFINIDA?.

En los 4 artículos. Sí

2-¿FUE ALEATORIA LA ASIGNACIÓN DE LOS PACIENTES A LOS TRATAMIENTOS?

No es aplicable esta pregunta, puesto que solo hay un tratamiento administrado, CART de segunda generación.

3-¿FUERON ADECUADAMENTE CONSIDERADOS HASTA EL FINAL DEL ESTUDIO TODOS LOS PACIENTES QUE ENTRARON EN ÉL?.

En los 4 estudios Sí.

4-¿SE MANTUVO CEGAMIENTO?.

No es aplicable esta pregunta, puesto que solo hay un tratamiento administrado.

5-¿FUERON SIMILARES LOS GRUPOS AL COMIENZO DEL ENSAYO?

En los 4 estudios Sí.

6-¿AL MARGEN DE LA INTERVENCIÓN EN ESTUDIO LOS GRUPOS FUERON TRATADOS DE IGUAL MODO?

En los 4 estudios Sí.

7-¿ES MUY GRANDE EL EFECTO DEL TRATAMIENTO?

En los 4 estudios Sí.

8-¿CUÁL ES LA PRECISIÓN DE ESTE EFECTO?

En 2 estudios no se presentan los resultados con Intervalos de Confianza.

Tales son *Turtle C.J. y col, 2016* y *Davila M y col, 2014*.

Sí que presentan Intervalo de Confianza: *Lee, D.W y col, 2014* y *Maude S y col, 2014*

9-¿PUEDE APLICARSE ESTOS RESULTADOS EN TU MEDIO O POBLACIÓN LOCAL?

En los 4 estudios Sí.

10-¿SE TUVIERON EN CUENTA TODOS LOS RESULTADOS DE IMPORTANCIA CLÍNICA?

En los 4 estudios Sí.

11-¿LOS BENEFICIOS A OBTENER JUSTIFICAN LOS RIESGOS Y LOS COSTES?

En los 4 estudios Sí.

5.2. ANÁLISIS Y SÍNTESIS DE LA EVIDENCIA CIENTÍFICA.

Para evaluar la evidencia científica se ha utilizado la escala GRADE, teniendo en cuenta que la calidad de los Ensayos Clínicos es Alta y los Estudios Observacionales es baja (*Alonso-Coello P y col, 2016*).

En el caso de los 4 estudios que atañen a este trabajo existe 1 factor que podría disminuir la calidad de la evidencia. Este consiste en el hecho de que no hay aleatorización de tratamientos, ya que todas las personas participantes reciben la misma intervención.

Para futuros ensayos incrementaría la calidad de la evidencia el hecho que los miembros fueran comparados con un grupo control y tener una aleatorización adecuada.

Por otra parte, en los artículos presentados existe un gradiente dosis-respuesta (a más dosis se observan más efectos). Este factor aumenta la calidad de la evidencia

5.3. RESUMEN DE LOS HALLAZGOS PRINCIPALES. ANÁLISIS DESCRIPTIVO.

ARTICULO 1. *Turtle C.J. y col, 2016:*

Es un ensayo clínico fase 1 abierto, tras el cual se está realizando un ensayo clínico fase 2.

N=32 pacientes con mediana edad de 40 años. 2 pacientes tuvieron complicaciones médicas.

Antes de empezar la intervención se detectó la enfermedad en Médula Ósea, Extramedular o Líquido Cefalorraquídeo mediante Citometría de Flujo.

De los 30 pacientes, 29 tenían blastos en Médula Ósea y 7 tenían enfermedad extramedular.

En este caso se aplica primero Quimioterapia para producir una linfodeplección y luego se transfieren las células CAR-T 48-96 horas tras la Químio con 3 niveles de dosis (Figura 8).

La dosis de células CART se administra según la cantidad de células T que tiene el paciente previamente.

Nivel 1: $2 \times 10^5/\text{kg}$

Nivel 2: $2 \times 10^6/\text{kg}$

Nivel 3: $2 \times 10^7/\text{kg}$

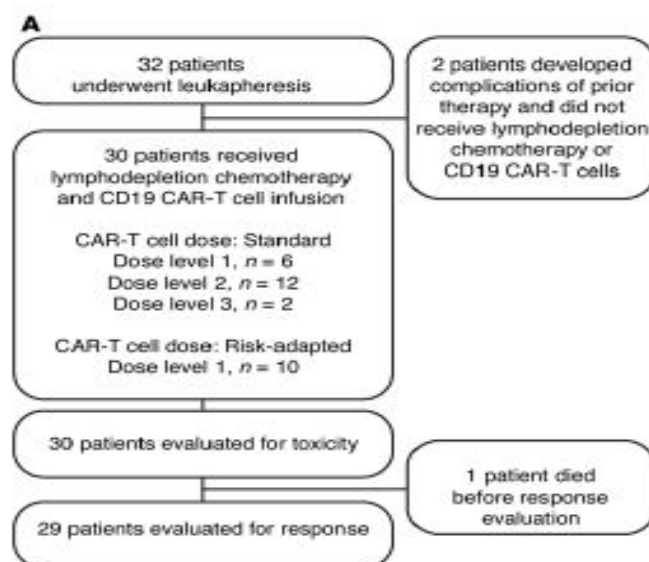


Figura 8: Esquema del estudio publicado por: *Turtle C.J. y col, 2016*

De los 30 pacientes tratados, 2 fallecieron (1 falleció a los 28 días, antes de la evaluación de respuesta y la otra persona 122 días post tratamiento). Estos pacientes recibieron la máxima dosis, se sospecha alta toxicidad.

El resultado se mide mediante citometría de flujo, cariotipo y reordenamiento IgH para así ver la presencia de células CD19+.

Los resultados a los 28 días post-tratamiento, son los siguientes (Figura 9):

Remisión completa del 93% de los pacientes, 27, presentan citometría de flujo para la enfermedad negativa.

El 83% de los pacientes muestran SRC grave en un 23% que revierte con Tocilizumab (Anticuerpo monoclonal Contra IL-6).

El 50% presenta leve neurotoxicidad (confusión, delirio y alteraciones conductuales) que revierte fácilmente con tocilizumab (Anticuerpo Monoclonal Contra IL-6).

	Age (yr)	Prior therapy		BM blasts (% leukocytes) before lymphodepletion and CAR-T cell therapy	CD8 ⁺ T cell subset isolation	Lymphodepletion regimen	Infused CAR-T cells			Flow cytometry
		Prior intensive therapies	Prior allogeneic HCT				CD4 ⁺ EGFRt ⁺ T cells/kg	CD8 ⁺ EGFRt ⁺ T cells/kg	Risk-adapted dosing for high tumor burden	
1 ^A	37	2	N	0.016	CD8TCM	CE	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	NA	MRD
2	50	4	DUCB	0.65	CD8TCM	CE	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	NA	Negative
3	32	3	MReID	1.6	CD8TCM	Cy	1.97 × 10 ⁶	3 × 10 ⁴	NA	MRD
4	71	2	N	16.5	CD8TCM	Cy	1 × 10 ⁷	1 × 10 ⁷	NA	Negative
5	28	4	N	4.8	CD4/14/45RA-neg	Cy	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	NA	Negative
6 ^B	48	2	N	31.8	CD8TCM	Cy	1.16 × 10 ⁷	8.4 × 10 ⁶	No	Not done
7	24	3	N	97	CD4/14/45RA-neg	Cy	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	Yes	Negative
8	37	4	MURD	83.6	CD8TCM	Cy	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	Yes	Negative
9	37	2	N	30.2	CD8TCM	Cy	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	Yes	Negative
10	58	3	MURD	7.9	CD8TCM	Cy	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	Yes	Negative
11 ^F	62	3	N	46	CD8TCM	Cy	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	Yes	Negative
12	24	2	N	60.7	CD8	Cy	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	No	Negative
13	29	1	N	10	CD8	Cy	1.49 × 10 ⁶	5.1 × 10 ⁶	NA	Negative
14	40	3	N	12.7	CD8TCM	Cy/Flu5	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	NA	Negative
15 ^D	52	3	N	87.2	CD8	Cy/Flu5	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	No	Negative
16	22	1	N	23.5	CD8TCM	Cy/Flu5	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	No	Negative
17 ^E	52	5	N	49.6	CD8	Cy/Flu3	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	No	Negative
18 ^G	38	4	MReID	10.7	CD8TCM	Cy/Flu3	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	NA	Negative
19	39	3	MURD	28	CD8TCM	Cy/Flu3	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	No	Negative
20	51	3	N	1.1	CD8TCM	Cy/Flu5	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	NA	Negative
21	30	2	N	17.4	CD8	Cy/Flu5	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	Yes	Negative
22	52	6	MURD; MURD	0.04	CD8	Cy/Flu3	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	NA	Negative
23	23	6	MURD	0.55	CD8TCM	Cy/Flu3	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	NA	Negative
24	38	2	N	0.014	CD8	Cy/Flu3	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	NA	Negative
25	40	1	N	21	CD8TCM	Cy/Flu3	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	Yes	Negative
26	73	4	N	0.03	CD8	Cy/Flu3	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	NA	Negative
27	43	4	MURD	0	CD8TCM	Cy/Flu3	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	NA	Negative
28	43	11	MReID; Rel Haplo	28.6	CD8TCM	Cy/Flu3	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	Yes	Negative
29 ^F	61	1	N	28.4	CD8	Cy/Flu3	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	Yes	Negative
30	20	4	MURD	74.7	CD8	Cy/Flu3	1 × 10 ⁵	1 × 10 ⁵	Yes	Negative

Figura 9: Resumen de los datos de *Turtle C.J. y col, 2016*

ARTICULO 2. En *Davila M y col, 2014*:

Es un ensayo clínico fase 1 abierto. N=16. Edad media 50 años.

De los 16 pacientes 14 eran refractarios de la enfermedad y 3 tenían enfermedad extramedular (Figura 10).

La presencia de enfermedad se mide mediante PCR y Citometría de flujo.

En este caso se aplica primero Quimioterapia (ciclofosfamida) para producir una linfodeplección y luego se transfieren las células. La dosis de CAR-T fue: 3x10⁶/kg.

El resultado se midió mediante Citometría de Flujo, PCR y reordenamiento IgH.

Characteristics	No. of patients (N = 16)	%
Sex		
Male	12	75
Female	4	25
Age (years)		
Median	50	
Range		
18–29	4	25
30–59	7	44
≥60	5	31
Baseline BM cytogenetics		
Unfavorable	7	44
Ph ⁺	4	25
Intermediate	9	56
Previous allo-SCT		
Yes	4	25
No	12	75
Extramedullary disease		
CNS	2	12
Other	1	6
None	13	81
Duration of CR1 (months)		
Median	8	
Range		
<6	5	31
6–24	7	44
>24	4	25
Number of salvage regimens		
1	9	56
2	4	25
≥3	3	19
Refractory to immediate previous therapy		
Yes	14	88
No	2	12
B-ALL tumor burden in the BM before CAR T cell infusion (n = 15) *		
MRD [−]	2	13
MRD ⁺	5	33
<50% blasts	2	13
≥50%	6	40

Figura 10: Características de los pacientes en *Davila M y col, 2014*

Los resultados a los 28 días tras el tratamiento son (Figura 11):

El 88% de los pacientes han tenido una respuesta completa al tratamiento.

El 43% de los pacientes presenta un SRC Severa, que, como en el caso anterior (*Turtle C.J. y col, 2016*)) revierte eficazmente con tocilizumab.

Por último, un 25% muestra Neurotoxicidad leve (delirios, alucinaciones y alteraciones neurológicas autolimitadas)

Summary of clinical outcomes.

Characteristics	No. of patients (N = 16)	%
Overall complete response to salvage chemotherapy*	7	44
Overall complete response to 19–28z CAR T cells	14 [†]	88
In patients with morphologic residual leukemia (n = 9)	7	78
Complete remission (CR)	10	63
Complete remission with incomplete count recovery (CRi)	4	25
Molecular complete remission (CRm) [‡]	12 [‡]	75
Median time to CR/CRi (days)	24.5	
Post-CAR T allo-SCT (n = 10 eligible patients) [§]	7	70

Figura 11: Resumen de los resultados en Davila M y col, 2014

Es destacable, que la terapia con CART tiene éxito en los grupos donde la Quimioterapia tiene menos Eficacia, estos grupos incluyen a los pacientes con el Cromosoma Philadelphia + y pacientes con linfoma refractario al tratamiento con Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos (Figura 12).

Patient ID	Age	Cytogenetics at diagnosis	Salvage therapy	Disease response to salvage therapy	Disease response to CAR T cells
MSK-ALL01	66	Normal karyotype	Vinc/Pred/Peg	MRD ⁺ by DS	MRD ⁺ by DS
MSK-ALL03	56	Normal karyotype	Vinc/Pred/Peg	MRD ⁺ by FC	MRD ⁺ by FC
MSK-ALL04	59	t(9;11), 9p21 deletion	Vinc/Pred	Refractory disease, 63% blasts in BM	MRD ⁺ by DS
MSK-ALL05	58	9p21 deletion	High-dose cytarabine/mitoxantrone	Refractory disease, 70% blasts in BM	MRD ⁺ by DS
MSK-ALL06	23	Normal karyotype	Modified NYII Consolidation I (27)	MRD ⁺	MRD ⁺ by DS
MSK-ALL07	30	9q isochromosome, 12p13 deletion	Vinc/Pred/Peg	Refractory disease, 5–10% blasts in BM	MRD ⁺ by DS
MSK-ALL08	74	Complex including 11q23 deletion	MTX	BM-negative, +extramedullary disease	No response
MSK-ALL09	23	NA	Modified NYII Consolidation I	MRD ⁺ by FC	MRD ⁺ by FC, MRD ⁺ by DS
MSK-ALL10	27	Normal	Modified NYII Consolidation I	MRD ⁺ by FC	MRD ⁺ by FC
MSK-ALL11	32	Ph ⁺	Vinc/Peg	MRD ⁺ by qPCR	MRD ⁺ by qPCR
MSK-ALL12*	42	Ph ⁺	Clofarabine	Refractory disease, 97% blasts in BM	No response
MSK-ALL13*	36	Ph ⁺	Inotuzumab	Refractory disease, 60% blasts in BM	MRD ⁺ by DS and qPCR
MSK-ALL14	60	NA	Vinc/Pred/Peg	Refractory disease, 52% blasts in BM	MRD ⁺ by FC
MSK-ALL15*	27	t(2;12), monosomy 7	L20 (28)	Refractory disease, 23% blasts in BM	MRD ⁺ by DS
MSK-ALL16*	63	Ph ⁺ , 11q deletion	POMP (29)	MRD ⁺ by qPCR	MRD ⁺ by qPCR
MSK-ALL17	59	Complex	Vinc/Pred	Refractory disease, 85% blasts in BM	MRD ⁺ by FC

Figura 12: Resultados por paciente en Davila M y col, 2014.

ARTICULO 3. *Lee, D.W y col, 2014:*

Es un ensayo clínico fase 1 abierto dosis escalonado. N=21 pacientes. No hubo abandonos.

Como en los artículos anteriores la presencia de enfermedad se mide mediante citometría de flujo.

Se aplica primero Quimioterapia para producir una linfodeplección (en este caso fludarabine y ciclofosfamida) y luego (tratamiento adyuvante) se transfiere las células CART. La dosis de células CART se administra según la cantidad de células T que tiene el paciente previamente.

El resultado se mide mediante citometría de flujo, cariotipo y reordenamiento IgH para así ver la presencia o no de células CD19+.

Se administraron 2 dosis de CART.

-Dosis 1: 1×10^6 /kg.

-Dosis 2: 3×10^6 /kg.

La dosis tolerada máxima fue la Dosis 1, con una toxicidad reversible.

Los resultados (Figura 13) a los 28 días tras el tratamiento son:

De 21 pacientes, 14 han respondido correctamente al tratamiento (67%, Intervalo Confianza (IC) al 95% 43-85,4).

Un 76% mostró Síndrome de Respuesta Citoquínica, siendo severo en un 28% y llegando al límite (grado 4) en el 36% de los pacientes (IC: 3-36,3).

Un 29% de los pacientes presentan Neurotoxicidad (alucinaciones, delirios y alteraciones conductuales).

Además, existe una correlación positiva entre en la medida de las células CART mediante Citometría de Flujo y PCR a los 7 días (Spearman $r=0,70$. IC 0,5-0,92). Y a los 14 días postadministración ($r=0,89$ IC; 0,71-0,96).

	Age	Sex	Previous treatment	Number of relapses	Marrow blasts (% of mononuclear)		CNS status	CAR dose (×10 ⁶ /kg)	Response (day 28)	CRS grade	Absolute circulating CART cells at day 28 (×10 ⁶ /kg)	Days until HSCT after CAR
					Pre-treatment	Post-CAR						
1	13	M	C, R, I, T	8	30%	1%	1	1	CRi	2	1	--
2	16	F	C, R, T	2	35%	40%	1	0.03	SD	0	1.9	--
3	10	F*	C, R, I, T	Primary refractory	--	--	--	1	PD	1	0	--
4	11	F	C	Primary refractory	58%	<0.01%	1	1	CR, MRD Neg	1	2.8	47
5	10	M	C	1	10%	<0.01%	1	0.48	CR, MRD Neg	2	0.4	82
6	10	M	C	3	81%	99%	1	3†	PD	1	0	--
7	25	M	C, I	1	50%	0.03%	1	3	CR	4‡	0	--
8	18	M	C, R, T	1	0.2%	<0.01%	2	1	CR, MRD Neg	1	3	--
9	13	M	C, R, I, T, CAR	3	0.56%	<0.01%	1	3	CR, MRD Neg	1	3.1	45
10	5	M	C	Primary refractory	5%	<0.01%	1	3	CR, MRD Neg	3	0	54
11	23	M	C, R	1	84%	<0.01%	2	1	CR, MRD Neg	3	6.5	54
12	9	M	C	1	95%	96%	1	1	PD	0	0	--
13	27	F	C	3	21%	43%	1	1	PD	0	0	--
14	15	M	C, R, T	3	96%	<0.01%	1	1	CR, MRD Neg	4‡§	1.4	--
15	5	F	C, R, T	1	15%	10%	1	1	SD	0	0	--
16	25	M	C	Primary refractory	50%	<0.01%	1	1	CR, MRD Neg	4‡§	3.1	63
17	18	F	C	Primary refractory	0.03%	<0.01%	1	1	CR, MRD Neg	1	0.2	48
18	13	M	C, R, T	2	90%	97%	1	1	SD	0	0	--
19	21	M	C	2	7.7%	<0.01%	1	1	CR, MRD Neg	3‡	40.3	55
20	16	F	C	Primary refractory	0.7%	<0.01%	1	1	CR, MRD Neg	1	0	46
21	6	M	C	Primary refractory	0.56%	<0.01%	1	1	CR, MRD Neg	1	0	46

M=male, F=female, C=chemotherapy, R=radiation therapy, I=immunotherapy, T=allogeneic haemopoietic stem-cell transplant. CAR=CD19 chimeric antigen receptor. CRS=cytokine release syndrome. CR=complete response. MRD Neg=no minimal residual disease detected. CRi=CR with incomplete count recovery. SD=stable disease. PD=progressive disease. HSCT=haemopoietic stem-cell transplant. *Diffuse large B-cell lymphoma. †Actual dose received was 3.6×10⁶ CAR T cells per kg. ‡Tocilizumab. §Corticosteroid.

Figura 13: Características de los pacientes y resultados en Lee, D.W y col, 2014

ARTICULO 4. En Maude S y col, 2014:

Es un ensayo clínico fase 1 abierto. N=30 pacientes. 25 pacientes son pediátricos (5-22 años) y 5 adultos (26-60) (Figura 14).

Como en los artículos anteriores, la presencia de enfermedad se mide mediante citometría de flujo y además se midió en analítica los Linfocitos T de los y las pacientes (número inferior a una persona sana).

Se aplica primero Quimioterapia para producir una linfodeplección y luego se transfiere las células CART (dosis de entre $0.76 \times 10^6/\text{kg}$ hasta $20.6 \times 10^6/\text{kg}$ aumentando la dosis según la evolución del paciente).

El resultado se midió mediante Citometría de Flujo, PCR y reordenamiento IgH

Characteristic	Pediatric Cohort (N = 25)	Adult Cohort (N = 5)	Total (N = 30)
Sex — no. (%)			
Female	11 (44)	1 (20)	12 (40)
Male	14 (56)	4 (80)	18 (60)
Age at infusion — yr			
Median	11	47	14
Range	5–22	26–60	5–60
Allogeneic transplantation — no. (%)	18 (72)	0	18 (60)
Primary refractory disease — no. (%)	0	3 (60)	3 (10)
Relapse — no. (%)			
1	3 (12)	2 (40)	5 (17)
≥2	22 (88)		22 (73)
Baseline burden of acute lymphoblastic leukemia — no. (%)			
Presence of detectable disease [†]	20 (80)	4 (80)	24 (80)
Morphologic remission [‡]		1 (20)	1 (3)
Absence of minimal residual disease	5 (20)		5 (17)
High-risk cytogenetic factors — no.			
<i>BCR-ABL1</i>	2		
<i>IKZF1</i> deletion	2		
<i>iAMP21</i>	1		
<i>MLL</i> translocation	1		
Hypodiploidy	2		
CNS status — no. [§]			
CNS-1	23		
CNS-2	2		

Figura 14: Características de los pacientes en *Maude S y col, 2014*

Los resultados, a los 28 días post infusión indican que el 90 % (27/30) han tenido una remisión completa. Además, la remisión sostenida de la enfermedad se ha medido a los 6 meses. En este caso ha sido de un 67%). La supervivencia a los 6 meses ha sido de un 78%.

Respecto al SRC se objetiva en la totalidad de los pacientes siendo severo en un 27%, reversible con Tocilizumab. La Neurotoxicidad se aprecia en un 43% de los pacientes.

En la siguiente tabla se resumen los hallazgos principales de los 4 estudios analizados:

	Dominio de Señal en los CAR	Dosis.	Población.	Remisión Completa	SRC	Toxicidad Neurológica.
<i>Turtle C.J. y col, 2016</i>	CD3z-4-1BB	Nivel 1: 2x10 ⁵ /kg Nivel 2: 2x10 ⁶ /kg Nivel 3: 2x10 ⁷ /kg	N=29 Adultos.	93 %	83%. 23% Severo.	50 %
<i>Davila M y col, 2014</i>	CD3z-CD28	3x10 ⁶ /kg	N=16 Adultos	88 %	43% Severo.	25 %
<i>Lee, D.W y col, 2014</i>	CD3z-CD28	Dosis1: 1x10 ⁶ /kg Dosis 2: 3x10 ⁶ /kg	N=21, Niños y adultos jóvenes.	67 %	76%. 28% Severo.	29 %
<i>Maude S y col, 2014</i>	CD3z-4-1BB	0,76x10 ⁶ /kg- 20,6x10 ⁶ /kg	N=30 Niños y adultos jóvenes.	90 %	100% 27% Severo.	43 %.

6) CONCLUSIONES DE LOS AUTORES.

Los autores de los artículos analizados concuerdan en las siguientes conclusiones:

-Los CART tienen una gran eficacia en el tratamiento de la Leucemia Linfoblástica Aguda, tanto en adultos como niños.

-Los CART tienen una tasa mucho menor de recidivas que la Quimioterapia teniendo en cuenta la bibliografía existente (15-45% de tasa de recidiva). Los CART resultan especialmente útiles en casos con pacientes con traslocaciones de mal pronóstico.

-Los efectos secundarios del tratamiento CART pueden ser controlados farmacológicamente.

-Dada su eficacia, sería importante, una vez que se reafirme como tratamiento en la Leucemia Linfoblástica Aguda, intentar aplicarla a otras neoplasias como el Mieloma Múltiple y los Linfomas.

-Los CART permiten a los pacientes con Leucemia tener una mejor calidad de vida teniendo en cuenta parámetros a nivel físico, psicosocial e independencia.

7) DISCUSIÓN.

En este estudio hemos querido llevar a cabo una revisión sistemática del tratamiento con terapia génica de la LLA, la neoplasia pediátrica más frecuente en España analizando 4 trabajos que cumplieran los criterios de inclusión y exclusión. En estos estudios los pacientes eran pacientes con LLA refractarios al tratamiento con Quimioterapia. Actualmente en los Ensayos Clínicos fase 2 ya se está tratando a los pacientes con LLA directamente con CART sin pasar por la Quimioterapia previamente.

La terapia génica en esta patología se centra sobretudo en la administración de Linfocitos T transfectados con CAR de segunda generación. Como se ha explicado en la introducción, el método consiste en aislar los Linfocitos T del paciente. Mediante el uso de lentivirus se transmite la información genética que codifica para el receptor quimérico. Este receptor contiene un dominio extracelular, que reconoce al receptor de membrana CD-19, expresado en los linfoblastos tumorales y causantes de la LLA. Por otro lado el receptor quimérico contiene un dominio intracelular (CD3z-4-1BB o CD3z-CD28) que activa las células T. Posteriormente los linfocitos T modificados genéticamente, se expanden *in vitro* y se reinfunden al paciente.

Antes de la infusión de los linfocitos T modificados *ex vivo*, el o la paciente recibe una dosis de quimioterapia (sobretudo ciclofosfamida) para producir una linfodeplección. A diferencia del tratamiento estándar de la

LLA que implica varias fases y varios agentes quimioterápicos durante un periodo prolongado de tiempo., en el caso de los CART se utiliza solo una dosis del fármaco (con lo que el daño a la o el paciente y sus efectos secundarios del tratamiento Se ven enormemente reducidos

El resultado es que los linfocitos T modificados genéticamente, expresan un CAR específico contra C19. Por ello estas células atacarán exclusivamente a los linfocitos CD-19 positivos.

La comparación de estos 4 artículos muestra que utilizando el dominio de señal CD3z-4-1BB da mejor resultado que utilizando el dominio CD3z-CD28. En el primer caso se observa una remisión completa superior al 90% y una tasa de SRC severa del 23-27% según el estudio.

En el segundo caso (dominio CD3z-CD28) la remisión completa puede ser 67-88% según el estudio y un SRC entre el 23 y 43%.

Por otra parte, el dominio CD3z-CD28 presenta menor índice de neurotoxicidad que el CD3z-4-1BB. Más estudios bioquímicos serían necesarios para establecer el mecanismo que subyacen a este resultado y determinar en qué casos es mejor un dominio u otro, correlacionando con las características de la o el paciente.

Cabe decir que el SRC y la neurotoxicidad (manifestada por alucinaciones, confusión y clínica neurológica asociada) revierten con buen resultado tras la administración de Tocilizumab (anticuerpo monoclonal contra IL-6).

Teniendo en cuenta que estos pacientes presentaban una LLA refractaria la conclusión de nuestra revisión es que la tecnología CART es una poderosa y atractiva alternativa para el tratamiento de esta enfermedad.

Además de la posibilidad de tratar a LLA refractaria, la terapia génica tiene unos efectos secundarios mucho más leves que la quimioterapia tradicional. En general, la quimioterapia tiene una eficacia del 85%, pero se ha visto que en casos con pacientes con translocaciones de mal pronóstico esta eficacia disminuye al 43 %. En cambio, en estos casos, la terapia génica supera con creces la quimioterapia tradicional.

Por otro lado, la quimioterapia presenta una alta toxicidad, con un gran deterioro de su salud y dificultad para incorporarse a su vida diaria tras el tratamiento. Esta dificultad para incorporarse a la vida diaria se mide mediante parámetros físicos, psicosociales y de dependencia. También, debido a la toxicidad pueden llegar a recibir tratamientos crónicos en algunos casos como Insuficiencia Renal.

Las toxicidades más importantes reportadas en la quimioterapia tradicional y que no se han observado en absoluto en ninguno de los artículos revisados de ensayos clínicos con CART son el síndrome de lisis tumor-

ral y una neurotoxicidad muy agresiva que puede producir secuelas como problemas cognitivos (amnesia).

El síndrome de lisis tumoral está presente, en un 25% de los pacientes y puede provocar daño renal. En un 11% puede haber trombosis arterial que puede desembocar en anoxia tisular. También se documenta hasta un 20% de los pacientes una con infecciones, de los cuales la mitad son graves con compromiso vital.

Por tanto, los CAR producen menos efectos secundarios que la quimioterapia, y éstos a su vez son menos graves, disminuyendo la hospitalización de los pacientes post-tratamiento, mejorando su calidad de vida y teniendo mejor coste-beneficio que la quimioterapia. Además, posteriormente al tratamiento los pacientes pueden incorporarse a su vida cotidiana sin más incidencias, cosa que no ocurre con el tratamiento de quimioterapia debido a su alta toxicidad

En septiembre la FDA aprobó el primer medicamento génico del mercado, el Tisagenlecleucel (bajo el nombre comercial Kymriah) sobre el cual actualmente se están realizando ensayos clínicos fase II cuyos resultados están previstos se publiquen en verano de 2018.

Este fármaco génico está diseñado por Novartis. Se recomienda una única infusión de linfocitos T transfectados de $0,2-5 \times 10^6/\text{kg}$ por vía intravenosa en pacientes con <50 kg de peso (normalmente pacientes infantiles). La dosis aumenta en pacientes de más envergadura, adultos, y oscila entre $0,1$ y $2,5 \times 10^8/\text{kg}$.

Estos estudios presentan en su diseño mayor número de pacientes (>200), aleatorización, randomización y doble ciego aumentando así la validez externa de los resultados reduciendo los sesgos que pudieran existir.

También en estos centros se está planificando una aplicación en otros tumores (sobre todo Mieloma Múltiple) si los resultados en la Fase II de la LLA son los esperados.

Cabe recalcar que este fármaco ha conseguido ser el gran hito de la Terapia Génica al ser el primer medicamento génico aprobado por la FDA. Otros medicamentos aprobados han sido Glybera (2012) por la Agencia Europea del Medicamento y Gendicina (2003) en China.

Sobre el apartado económico, los tratamientos CAR empezaron con un coste de medio millón de dólares, pero con la automatización de los laboratorios y la capacidad de los hospitales de diseñarlo el coste se ha disminuido. Se está consiguiendo fabricarlos con un coste de 60.000 €.

En mi opinión, en base a la revisión sistemática de 4 ensayos clínicos de este trabajo, los CART han demostrado una eficacia y unos resultados muy prometedores, por lo que es posible que tengan un auge importante en los próximos años. La biotecnología se va automatizando por lo que los costes económicos de la preparación se reducen.

Sería deseable que si los resultados se confirman en los Ensayos Clínicos fase II se pudiera incorporar a la práctica clínica diaria en poco tiempo.

8) REFERENCIAS.

Alonso-Coello P, Schünemann HJ, Moberg J, Brignardello-Petersen R, Akl EA, Davoli M, Treweek S, Mustafa RA, Rada G, Rosenbaum S, Morelli A, Guyatt GH, Oxman AD; GRADE Working Group. GRADE

Afzal S, Ethier MC, Dupuis LL, et al. Risk factors for infection-related outcomes during induction therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. Pediatr Infect Dis J 2009; 28:1064.

Caruso V, Iacoviello L, Di Castelnuovo A, et al. Thrombotic complications in childhood acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis of 17 prospective studies comprising 1752 pediatric patients. Blood 2006; 108:2216.

Davila M, Riviere I, Wang X, Bartido S, Park J, Curran K et al. Efficacy and Toxicity Management of 19-28z CAR T Cell Therapy in B Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. Science Translational Medicine. 2014;6(224):224ra25-224ra25.

Lee D, Kochenderfer J, Stetler-Stevenson M, Cui Y, Delbrook C, Feldman S et al. T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial. The Lancet. 2015;385(9967):517-528.

Maude S, Frey N, Shaw P, Aplenc R, Barrett D, Bunin N et al. Chimeric Antigen Receptor T Cells for Sustained Remissions in Leukemia. New England Journal of Medicine. 2014;371(16):1507-1517.

Nowak-Göttl U, Ahlke E, Fleischhack G, et al. Thromboembolic events in children with acute lymphoblastic leukemia (BFM protocols): prednisone versus dexamethasone administration. Blood 2003; 101:2529.

Nowak-Göttl U, Heinecke A, von Kries R, et al. Thrombotic events revisited in children with acute lymphoblastic leukemia: impact of concomitant Escherichia coli asparaginase/prednisone administration. Thromb Res 2001; 103:165

Oudot C, Auclerc MF, Levy V, et al. Prognostic factors for leukemic induction failure in children with acute lymphoblastic leukemia and outcome after salvage therapy: the FRALLE 93 study. *J Clin Oncol* 2008; 26:1496

Priest JR, Ramsay NK, Steinherz PG, et al. A syndrome of thrombosis and hemorrhage complicating L-asparaginase therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr* 1982; 100:984.

Rubnitz JE, Lensing S, Zhou Y, et al. Death during induction therapy and first remission of acute leukemia in childhood: the St. Jude experience. *Cancer* 2004; 101:1677

Schrapppe M, Hunger SP, Pui CH, et al. Outcomes after induction failure in childhood acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2012; 366:1371

Seibel NL, Steinherz PG, Sather HN, et al. Early postinduction intensification therapy improves survival for children and adolescents with high-risk acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *Blood* 2008; 111:2548.

Silverman LB, Gelber RD, Young ML, et al. Induction failure in acute lymphoblastic leukemia of childhood. *Cancer* 1999; 85:1395.

Terzah M Horton, C Philip Steuber. Overview of the treatment of acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents. UpToDate, 2017.

Truong TH, Beyene J, Hitzler J, et al. Features at presentation predict children with acute lymphoblastic leukemia at low risk for tumor lysis syndrome. *Cancer* 2007; 110:1832.

Turtle C, Hanafi L, Berger C, Gooley T, Cherian S, Hudecek M et al. CD19 CAR-T cells of defined CD4+:CD8+ composition in adult B cell ALL patients. *Journal of Clinical Investigation*. 2016;126(6):2123-2138